

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-198680

(43)Date of publication of application : 01.08.1995

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

B01D 57/02

(21)Application number : 06-303256

(71)Applicant : CIBA GEIGY AG

(22)Date of filing : 11.11.1994

(72)Inventor : MANZ ANDREAS
EFFENHAUSER CARLO S DR

(30)Priority

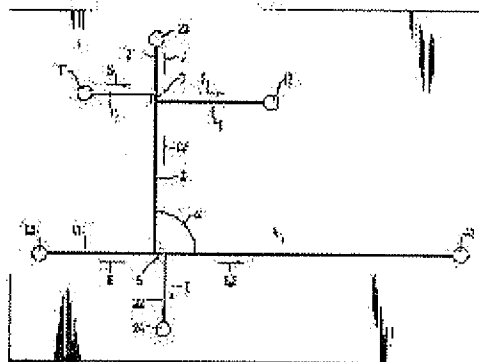
Priority number : 93 3392 Priority date : 11.11.1993 Priority country : CH

(54) ELECTROPHORETIC SEPARATION DEVICE AND METHOD FOR FLUID SUBSTANCE MIXTURE

(57)Abstract:

PURPOSE: To show as high separation performance as that of 2D gel electrophoresis and shorten a time required for separation and analysis.

CONSTITUTION: An electrophoretic separation device for complicated fluid substance mixture comprises flow passage systems 21, 22 for carrier medium C, a filling portion 3 to fill substance mixture S to be separated into the medium C and a separation passage 2 to separate the substance mixture in an electric field. The second separation passage 4 elongated at an angle α to the first separation passage 2 is provided on the downstream side of the filling portion 3. A crossing area between the first and second separation passages 2, 4 forms the second filling portion 5 to fill partially separated substance mixture S into the second carrier medium E. In an electrophoretic separation method for fluid substance mixture, the mixture S is filled into the carrier medium C in the first filling portion 3 and separated with the first separation passage 2 and then filled in the second carrier medium E and further separated with the second separation passage 4.



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-198680

(43)公開日 平成7年(1995)8月1日

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 27/447

B 0 1 D 57/02

G 0 1 N 27/ 26

3 3 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数28 F D (全 10 頁)

(21)出願番号 特願平6-303256

(22)出願日 平成6年(1994)11月11日

(31)優先権主張番号 3 3 9 2 / 9 3 - 9

(32)優先日 1993年11月11日

(33)優先権主張国 スイス (CH)

(71)出願人 390023146

チバーガイギー アクチエンゲゼルシャフト

CIBA-GEIGY AKTIENGESELLSCHAFT

スイス国 4002 バーゼル クリベックシュトラーセ 141

(72)発明者 アンドレアス マンツ

スイス国 4126 ベッチンゲン ビュッケンベーク43

(72)発明者 カルロ エス. エッフェンハウザー

ドイツ国 79756 パイル アム ライン
シュッツアッカーシュトラーセ 18

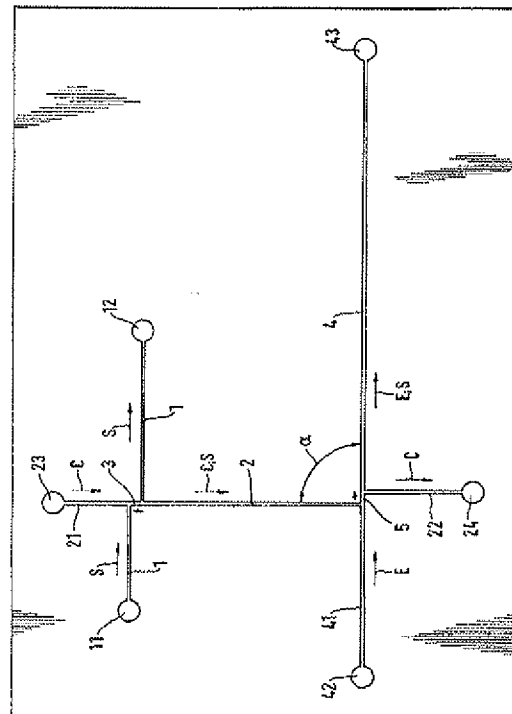
(74)代理人 弁理士 萼 経夫 (外1名)

(54)【発明の名称】 流体物質混合物の電気泳動分離のための装置および方法

(57)【要約】

【構成】 キャリアー媒体Cの流路系21、2、22、分離すべき物質混合物Sを媒体C中に注入する注入部3、電場中で物質混合物を分離するための分離経路2からなる複雑な流体物質混合物の電気泳動分離装置であって、注入部3の下流には第1の分離経路2に対して角度 α で伸長する第2の分離経路4があり、第1と第2の分離経路2、4の交差領域は第2のキャリアー媒体E中に部分的に分離された物質混合物Sを注入する第2の注入部5を形成する。混合物Sを第1の注入部3中のキャリアー媒体C中に注入し、第1の分離経路2で分離した後、第2のキャリアー媒体E中に注入し、第2の分離経路4でさらに分離する電気泳動による流体物質混合物の分離方法。

【効果】 2Dゲル電気泳動と同程度の高い分離性能を有し、かつ分離および分析に要する時間が短い。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 キャリアー媒体（C）のための流路系（21, 2, 22）と、分離すべき物質混合物（S）をキャリアー媒体（C）中に注入するための注入部（3）と、分離経路（2）に沿ってキャリアー媒体（C）にかけられ得る電場において物質混合物（S）を分離するための分離経路（2）とからなり、物質混合物（S）をさらに分離するために、別の電場が第2の分離経路（4, 4A-4J）に沿ってかけられ得る第2のキャリアー媒体（E）を有する少なくとも1つの第2の分離経路（4, 4A-4J）が備えられ、該第2の分離経路（4, 4A-4J）は第1の分離経路（2）に対してある角度（ α ）で傾斜され、そして分離すべき物質混合物（S）のための注入部（3）の下流で、ある距離離れて、第1の分離経路（2）と第2の分離経路（4, 4A-4J）との交差領域が第2のキャリアー媒体（E）中に部分的に分離された物質混合物（S）を注入するための第2の注入部（5, 5A-5J）を形成するように伸長する、複雑な流体物質混合物の電気泳動分離のための装置。

【請求項2】 部分的に分離された物質混合物（S）を注入するための第2の注入部（5, 5A-5J）が幾何学的に規定されている注入容量を有する請求項1記載の装置。

【請求項3】 第1の分離経路（2）と第2の分離経路（4, 4A-4J）との交差領域（5, 5A-5J）が二重T型片の形状にあり、該T型片の横棒部は各々第2の分離経路（4, 4A-4J）またはそれらの直線的伸長部（41, 41A-41J）により形成される請求項2記載の装置。

【請求項4】 分離すべき物質混合物（S）を第1のキャリアー媒体（C）中に注入するための第1の注入部（3）が幾何学的に規定された注入容量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の装置。

【請求項5】 第1の注入部（3）が二重T型片の形状を有し、該T型片の横棒部は各々第1の分離経路（2）またはそれらの直線的伸長部（21）により形成される請求項4記載の装置。

【請求項6】 第1の注入部（3）の下流に、それぞれの分離経路に沿ってかけられる電場において物質混合物（S）をさらに分離するための多くの別の分離経路（4, 4A-4J）が備えられ、その別の分離経路は第1の分離経路（2）に対してある角度（ α ）で傾斜され、そして互いにはほぼ平行に配置され、第1の分離経路（2）との交差領域は各々、部分的に分離された物質混合物（S）を第2のキャリアー媒体（E）中に注入するための別の注入部（5, 5A-5J）を形成する請求項1ないし5のいずれか1項に記載の装置。

【請求項7】 別の分離経路（4, 4A-4J）の端部が分離経路に比べより大きい断面積であることが好まし

い第2のキャリアー媒体（E）のための共通のリザーバー（44）および共通の採取容器（45）で終わっている請求項6記載の装置。

【請求項8】 リザーバー（44）および採取容器（45）の断面積が分離経路（4, 4A-4J）の断面積の約2ないし10000倍である請求項7記載の装置。

【請求項9】 リザーバー（44）および採取容器（45）が、pH勾配を第2のキャリアー媒体（E）に確立し得る手段を備えている請求項7または8記載の装置。

【請求項10】 第1および第2のキャリアー媒体（C, E）が異なる媒体である請求項1ないし9のいずれか1項に記載の装置。

【請求項11】 流路系（21, 2, 22）、注入部（3, 5, 5A-5J）、分離経路（2, 4, 4A-4J）、および適当である場合、リザーバー（44）および採取容器（45）およびあらゆるその他の伸長流路（41, 41A-41J）が好ましくは蓋、例えばガラスの蓋で覆われ得るガラス、ポリマーフィルムまたは半導体材料、好ましくは単結晶シリコンのプレートに製造され、そして別々の流入および流出開口部（11, 12, 42, 43; 11, 12, 46-49）が第1および第2のキャリアー媒体（C; E）および分離すべき物質混合物（S）のために備えられ、前記流入および流出開口部は蓋および／またはプレートに配置されている請求項1ないし10のいずれか1項に記載の装置。

【請求項12】 分離経路（2, 4, 4A-4J）が、約0.1 μm ないし約1000 μm の深さで、約1 μm ないし約500 μm の幅の溝の形状にあり、狭い溝は深さが常に大きく、そして逆の場合も同様である請求項12記載の装置。

【請求項13】 キャリアー媒体（C, E）が、電場により流路系（21, 2, 22）および分離経路（2, 4, 4A-4J）を介して移送される好ましくは水性電解質である請求項1ないし12のいずれか1項に記載の装置。

【請求項14】 キャリアー媒体（C, E）が静止ゲルである請求項1ないし12のいずれか1項に記載の装置。

【請求項15】 流路系（21, 2, 22）および分離経路（2, 4, 4A-4J）は1つまたは2つの側が開放されている請求項1ないし14のいずれか1項に記載の装置。

【請求項16】 流路系（21, 2, 22）、分離経路（2, 4, 4A-4J）およびあらゆる伸長流路（41, 41A-41J）はゲル内に形成され、そして3つの側が開放されている請求項14記載の装置。

【請求項17】 第2の分離経路（4）または別の分離経路（4, 4A-4J）が第1の分離経路（2）に対して傾斜している角度（ α ）が約30°ないし150°、好ましくは約90°である請求項1ないし16のいずれ

か 1 項に記載の装置。

【請求項 18】 検出器が各成分に分離された物質混合物 (S) のために備えられている請求項 1 ないし 17 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 19】 複雑な物質混合物 (S) が分離経路 (2) 上流でキャリアー媒体 (C) 中に注入され、次いで分離経路 (2) に沿ってかけられる電場において分離され、部分的に分離された物質混合物 (S) が分離経路 (2) の下流で、第 1 の分離経路 (2) に対してある角度 (α) で伸長する少なくとも 1 つの第 2 の分離経路 (4; 4A-4J) 中に存在する第 2 のキャリアー媒体 (E) 中に注入され、そして物質混合物 (S) が第 2 の分離経路に沿う第 2 のキャリアー媒体 (E) にか

けられた電場においてさらに分離される、分離経路に沿って複雑な流体物質混合物の電気泳動分離のための方法。

【請求項 20】 第 1 のキャリアー媒体 (C) および第 2 のキャリアー媒体 (E) 中への物質混合物 (S) の注入が注入部 (3, 5, 5A-5J) により行われ、その注入容量が分離経路 (2, 4, 4A-4J) の交差領域の構造により幾何学的に規定されている請求項 19 記載の方法。

【請求項 21】 第 1 のキャリアー媒体 (C) および第 2 のキャリアー媒体 (E) 中に注入するための物質混合物 (S) が二重 T 型片に沿って移送され、該 T 型片の横棒部は各々分離経路 (2, 4, 4A-4J) またはそれらの直線的伸長部 (21, 41, 41A-41J) により形成される請求項 20 記載の方法。

【請求項 22】 部分的に分離された物質混合物 (S) が、第 1 の分離経路 (2) の下流に次々に配置され、そして互いにほぼ平行で、かつ第 1 の分離経路 (2) に対してある角度 (α) で伸長する多くの別の分離経路 (4, 4A-4J) 中に注入され、それぞれにかけられた電場において並行してさらなる分離にさらされる請求項 19 ないし 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】 第 2 の分離経路 (4, 4A-4J) における部分的に分離された物質混合物 (S) が、第 1 の分離経路 (2) における移動方向と約 30° ないし 150° 、好ましくは 90° の角度 (α) を形成する方向に移動される請求項 19 ないし 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】 物質混合物 (S) の分離された成分が、ある時点でカメラにより 2 つの空間座標において光学的に 2 次元で検出される請求項 19 ないし 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】 物質混合物 (S) の分離された成分が、空間および時間座標の検出による線型走査光学検出器を用いて検出される請求項 19 ないし 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】 個々の分離経路 (4, 4A-4J) の各々における第 2 のキャリアー媒体 (E) が異なる pH

値を有するように、第 2 のキャリアー媒体 (E) の pH 値が変動され得、そして pH 勾配が隣接する分離経路に存在するキャリアー媒体 (E) 間に確立される請求項 22 ないし 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】 第 1 の分離経路 (2) における第 1 のキャリアー媒体 (C) が第 2 のキャリアー媒体 (E) とは異なるように選択される請求項 19 ないし 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】 選択されるキャリアー媒体 (C, E) が可動性電解液または好ましくは静止ゲルである請求項 19 ないし 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、流体物質混合物の電気泳動分離のための装置および方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 電気泳動分離方法は、電場がかけられた場合のキャリアー媒体における試験試料の個々の成分の異なる移動速度に基づいている。非常に広範囲に使用される方法はキャリアー媒体と試験すべき試料とを電場がかけられる両末端間のキャピラリー分離経路からなるキャピラリー系中を移動させるキャピラリー電気泳動である。キャピラリー系中のキャリアー媒体の移動および試験すべき試料のキャリアー媒体中への注入はポンプとバルブにより、またはキャピラリー系の種々の部分に適用される電場を用いて行われ得る。キャリアー媒体中に注入された試料の個々の成分は、分離経路の電場において異なる速度で移動し、その結果、試料が分離される。個々の成分はキャピラリー分離経路に接続された検出器により決定され得る。異なる試料の同時分析のために、いくつかの平行キャピラリーを有する分離装置もまた提案されている (Anal. Chem. 1992, 64, 967-972)。

【0003】 DNA 配列決定において、例えばゲル充填キャピラリーが分離経路として使用される。該分離法において、キャリアー媒体、すなわちゲルは移動されず、ゲル中に注入された試料だけが適用された電場内を移動する。このようなゲル充填キャピラリーを用いる電気泳動分離システムの典型的な分離性能 (理論分離段数とも記載される) は例えば 30 分以内で約 250 ピークである。

【0004】 US-A-4908112 号は、分離経路を包含する分岐したキャピラリー系の小型化を提案している。キャピラリー系は半導体チップ上に配置される。キャリアー媒体の移動および分離すべき試料の注入はキャピラリー系の個々の経路部分間でスイッチが入れられ得る電場により行われる。流路系の寸法は非常に小さいが、得られる場の力は非常に大きい。結果的に、非常に少量のキャリアー媒体と非常にわずかな試料容量のみが必要とされる。さらに、分離法は典型的には約 30 kV

である高い印加電圧で非常に迅速に行われ得る。

【0005】非常に広範囲に使用される別の電気泳動分離方法は、ゲル電気泳動である。該分離方法はその構成部材中での試料の分離が溶液中ではなく、静止したキャリアー材であるゲル中で行われるものであり、エレクトロフェログラフィー(electropherography)としても知られている。このエレクトロフェログラフィー法において、分離すべき試料はストリップとして、好ましくは緩衝剤(フェログラム)中に浸漬されたキャリアー材の中央部に適用され、そして電圧はキャリアー材の端部に印加される。試料は個々の成分の移動方向および移動速度に従って分離される。異なる電荷の成分がそれぞれ反対の電荷の極に移動し、中性成分は適用した点に残る。連続的分離法において、緩衝液はキャリアー材の垂直プレートを介して流れる。試料はプレートのできるだけ上端近傍に添加される。電気泳動分離は緩衝剤の流れに対して垂直にかけられた電場により行われる。

【0006】ゲル電気泳動は荷電したバイオポリマーに対して確立された分離方法である。ポリアクリルアミドゲル(PAGE)は分離のために頻繁に使用される。ポリアクリルアミドゲルの細孔の大きさはゲル内の試料分子の電荷や立体障害性に従った分離を可能にする。ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)が添加される場合、分離された試料分子の移動距離と相当するモル質量との間に良好な相関が得られるが、しかし分子の電荷とは無関係である。SDS-PAGEゲル電気泳動の前の予備段階としての等電点電気泳動(IEFまたはIF)は多種類の極端に複雑な物質混合物を分離することも可能にする。

【0007】適度に十分に確立された、ゲル電気泳動のさらに進歩したものは、いわゆる2Dゲル電気泳動であり、それは試料が異なる基準に従って2次元(2D)に分離される。そのような2Dゲル電気泳動分離装置は、例えばA. T. アンドリュー著「電気泳動、その理論、方法ならびに生化学的および医学的利用」クラレンドンプレス、オックスフォード、1986年、223-230頁(A. T. Andrews, "Electrophoresis, Theory, Techniques and Biochemical and Clinical Applications", Clarendon Press, Oxford 1986, pages 223-230)に記載されている。この2次元分離方法は特に、第1の次元における等電点電気泳動と、第2の次元におけるゲル電気泳動、例えばSDS-PAGEゲル電気泳動との組合せとして使用される。得られるゲルパターンは、第1の次元において当該成分の等電点に関する情報を与え、そして第2の次元においてその成分のモル質量に関する情報を与える。2Dゲル電気泳動における典型的な分離性能は2時間以上の時間内で約10000のピーク能力である。

【0008】2Dゲル電気泳動を用いて非常に高い分離性能を得ることが可能であるけれども、その場合の該方

法の欠点は非常に多いことである。まず最初に、試料は第1のゲル上で第1の次元において分離されなければならない。第1のゲルは次に第2の次元における分離が行われるべき第2のゲルと一緒に運ばなければならない、非常に骨のおれる操作である。長い分析時間はフリーゲル中の分離成分の分散を生じ、バンドの望ましくない広がりを通り得る。ゲルにおける分離に必要な電圧は限定された範囲まで高められるだけであり、典型的には約2kVである。より高い電圧では、ジュール効果発熱が発生し、ゲルおよび試料の分解を生じ得る。

【0009】それ故に、同じ時間で分離度(分離性能)を低下させずに必要な長い分析時間を短縮する可能性はない。非常に長い分析時間はそれ故に、非常に複雑な物質混合物の分離のための2Dゲル電気泳動の使用に対する主な障害である。

【0010】キャピラリー電気泳動において、分析時間は分離経路の末端間の電圧を高めることにより著しく短縮させ得る。マイクロチップを基礎とする小型化キャピラリー電気泳動システムの場合において、約5ないし10kVの電圧が典型的には用いられ、これにより分析時間が1分未満となる。しかしながら、比較的単純な物質混合物がキャピラリー電気泳動を用いて分離され得るだけである。しかし、「2次元性」を達成し、従って非常に複雑な物質混合物の分離を可能にし得るために、多数の分離キャピラリーを互いに並べて結合すると、小型化システムにおいて、ナノリットル容量の接続部を必要とするであろう。しかし、そのような接続部は、それらが製造され得るとしても、製造が非常に難しく、かつ高価である。非常に迅速な分離のために極めて短いキャピラリー分離経路を用いると、接続部の死空間の妨害作用が特に高い。それ故にそれらの死空間は消滅する程小さく保たなければならないが、それは実際には不可能であると考えられる。2Dゲル電気泳動と同様に平面とした小型化キャピラリー電気泳動システムの分離経路の構築は、分離成分の分散を促進し、そして結果として分離性能の著しい悪化を招く。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】それ故に、本発明が解決しようとする課題は、2Dゲル電気泳動と同程度の性能を有し、かつ短い分離および分析時間を可能にする、流体物質混合物、特に複雑な流体物質混合物の電気泳動分離のための装置および方法を提供することである。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明に係る装置および方法により、上記課題およびその他の課題は解決され、そして従来技術の装置および方法の欠点は克服される。本発明の流体物質混合物の電気泳動分離のための装置は請求項1に記載され、そしてその方法は請求項19に記載されており、特に好ましい態様はそれぞれの従属項に記載されている。

【0013】本発明は特に、キャリア媒体のための流路系、分離すべき物質混合物のキャリア媒体中への注入のための注入部（注入機構、注入装置）、および分離経路に沿ってかけられる（適用される）電場において物質混合物を分離するための前記分離経路からなる、複雑な流体物質混合物の電気泳動による分離のための装置を提供する。分離すべき物質混合物のための注入部の下流で、そこからある距離離れた箇所には、第2の分離経路に沿ってかけられる電場において物質混合物をさらに分離するための前記第2の分離経路が備えられている。第2の分離経路は第1の分離経路に対してある角度で傾斜されている。第1および第2の分離経路の交差領域は、第2のキャリア媒体中に部分的に分離された物質混合物を注入するための第2の注入部を形成する。流体物質混合物は第1の注入部においてキャリア媒体中に注入され、そして次いで第1の分離経路に沿ってかけられる電場において分離される。部分的に分離された物質混合物は次に第1の分離経路の下流で第2のキャリア媒体中に注入され、そして第2の分離経路に沿ってかけられる電場においてその成分毎にさらに分離される。

【0014】本発明に係る装置および本発明に係る方法は、2Dゲル電気泳動から知られているような2次元分離の利点を利用するが、非常に長い分離および分析時間の欠点を有するものではない。非常に複雑な物質混合物の極めて良好な分離の利点はまた、小型化されたキャピラリー電気泳動システムにより特に可能にされる非常に短い分離および分析時間に関連している。本発明はナノリットル容量未満の接続部を必要としない2次元キャピラリー電気泳動システムを提供する。本方法は、典型的には1分から数分、非常に複雑な物質混合物の極めて迅速な分離を可能にする。分離性能は慣用のキャピラリー電気泳動の場合に比べ著しく高い。短い分析時間により、本発明はまた準連続分析に使用され得る。

【0015】好ましくは、物質混合物および部分的に分離された物質混合物を注入するための2つの注入部は、それらの幾何学（形状）により規定される注入容量を有する。好ましい変形において、第1の分離経路の第2の分離経路との交差領域は二重T型片（2連T字型片）の形状にあり、該T型片の横棒（T字型の頭部直線部）は各々第2の分離経路により形成されている。この方法において、第2の分離経路は連続的構造をなし、第1の分離経路が第2の分離経路に入る点およびそれが第1のキャリア媒体と分離すべき物質混合物との混合物の除去のために第2の分離経路から分岐する点は第2の分離経路の長さ方向に互い違いに（ずらして）配置されている。第2のキャリア媒体中への注入のために、部分的に分離された物質混合物は第1の分離経路における移送方向に対してある角度でまず移送される。その際に、方向転換され、そして好ましくは第1の分離経路に対して平行に、流路系から出口まで移送される。第1の注入部

は全体が相似の構造からなる。その場合において、未だに分離されていない物質混合物は、第1の分離経路に対してある角度で最初に移送され、次いで第1の移送方向に再び方向転換され、最終的に第1の分離経路中への進入点の下流にある分岐で再び方向転換され、そして元の移送方向に平行に出口まで移送される。その方法において、注入はブロック方式(block-fashion)で行われ、各々の場合における注入される容量は、合流した出口点から入口点の距離と、第1および第2の分離経路の断面積により決められる。

【0016】好ましい変形において、第1および第2の注入部は二重T型片の形状を有し、該T型片の横棒部は各々第1もしくは第2の分離経路またはそれらの直線的伸長部により形成されている。

【0017】本発明の特に好ましい変形において、それぞれの分離経路に沿ってかけられる電場において物質混合物をさらに分離するためのその他の分離経路が第1の注入部の下流に備えられている。それらの分離経路は同様に、第1の分離経路に対してある角度で、かつ互いにほぼ平行に伸長する。その他の分離経路と第1の分離経路との交差領域は各々、部分的に分離された物質混合物がその他の分離経路を介して移送される第2のキャリア媒体中に注入されるその他の注入部を形成する。この場合における注入部の構造は好ましくは既に上記したものに一致する。この特に好ましい変形により、装置を特に広範囲の用途に使用することが可能となる。特に、第1の分離経路において部分的に分離された物質混合物の種々の成分が、次々に下流で交差し、かつ互いに平行に伸長するその他の分離経路中に注入され得、そして上記成分が特定の基準に従ってさらなる分離に供され得る。例えば、異なる場の強度分布が個々のその他の分離経路において、物質混合物のさらなる分離に決定的な効果を奏し得る環境を適用し得る。

【0018】好ましくは、その他の分離経路の端部は第2のキャリア媒体のための共通のリザーバーおよび共通の採取容器を終点とする。リザーバーおよび採取容器はそれぞれ、分離経路に対するキャリア媒体の適当な供給を行うため、および停止を防止するために、キャピラリー形状の分離経路より大きい断面積であることが好ましい。好ましくは、供給および除去キャピラリーの断面積は分離経路の断面積に比べ約2ないし約10000倍大きくなるように選択される。その結果、比較的粘稠なキャリア媒体であっても困難のない操作が可能となる。

【0019】リザーバーおよび採取容器中の第2のキャリア媒体においてpH勾配を確立し得る手段が備えられているならば、本発明に係る分離装置を特に興味深い方法で使用するための局面が存在する。そのために、例えば両性電解質が第2のキャリア媒体として使用される。電極はリザーバーおよび採取容器における両性電解

質中に電場を発生させる。両性電解質分子の酸性基および塩基性基は電場において相応にそれ自身並び、移動し、そしてそのようにして両性電解質中に一時的または安定なpH勾配を生成する。そのように変更された装置において、各々のその他の分離経路を介して流れるキャリアー媒体は異なるpH値を有する。そのようにして、注入される部分的に分離された物質混合物は各分離経路における異なる周囲条件下でさらに分離され得る。

【0020】第1およびその他の分離経路における物質混合物の分離が異なる基準に従って起こることを可能にするために、第1の分離経路における第1のキャリアー媒体はその他の分離経路におけるものと異なるように選択される。選択されるキャリアー媒体は好ましくは電解液またはゲルである。例えば、物質混合物の等電点電気泳動が第1の分離経路で行われ得（第1の次元）、個々の成分に実際の分離が次いでその他の分離経路において行われ得る（第2の次元）。

【0021】物質混合物の分離された成分は、ある時点でカメラにより2つの空間座標において光学的に2次元で検出されるか、または空間および時間座標の検出による線型走査光学検出器を用いて検出されることが好ましい。両方の検出方法は容易に積分可能であり、そしてデジタル計算装置に適合可能である。

【0022】特に好ましい変形において、本発明に係る分離装置は小型化されている。流路系、注入部、分離経路、ならびに供給および除去キャピラリーは所望により蓋、好ましくはガラスの蓋で覆われ得るガラス、ポリマーフィルムまたは半導体材料、好ましくは単結晶シリコンのプレートに製造される。蓋および／またはプレートには、第1および第2のキャリアー媒体ならびに分離すべき物質混合物のための別々の流入開口部および流出開口部が配置されている。分離経路は好ましくは、約0.1 μm ないし約1000 μm の深さで、約1 μm ないし約500 μm の幅の溝の形状にある。より狭い流路は、より深く、そして逆の場合も同様である（すなわち、より広い流路はより浅い）。そのように構築される小型化分離装置は慣用の微小機械製造法または半導体産業から公知である製造法を用いて大量生産され得、そしてそれ故に、製造費用が比較的低い。さらに、種々の電子部品、例えば電場によりキャリアー媒体を移送するための電極は「分析チップ(analysis chip)」上に集積されることが可能である。

【0023】装置の変形において、使用されるキャリアー媒体は好ましくは水性電解質である。これらはキャリアー媒体が、電場により流路系および分離経路を介して移送され得るという利点を有する。そのために必要とされる電場は、例えば小型化分析チップ上に集積された電極により発生され、そして制御され得る。流路および分離経路が適当に小さい断面積を有する場合、それらは1つまたは2つの側が開放されていてもよい。その場

合、キャリアー媒体および試料は有効なキャピラリー力（効果）の結果として流路および分離経路中に残留する。

【0024】キャリアー媒体としてゲルを使用することも可能である。これらは好ましくは静止体であり、すなわちこの場合においてキャリアー媒体は流路系および分離経路を介して移送されずに、試料のみがゲル中を移動する。その場合、流路系および分離経路は1、2または3つの側さえも開放されていてもよい。全体の流路系および分離経路はゲルに、例えば写真平板または印刷もしくはエンボス法で製造され得る。ゲル自身が流路系および分離経路を形成し、そして3つの側が開放されている変形の場合には、流路をさらに規定するのは、ゲルのための非導電性キャリアー媒体（キャリアー材）のみである。その場合の試料はその他の横方向の案内なしにゲル流路中を移動する。

【0025】第2の分離経路が第1の分離経路に対して傾斜している角度は約30°ないし150°、好ましくは約90°である。これにより、流路および分離経路の形状および配置における適応性の度合いが比較的大きくなり、分離法の2次元性が保持される。

【0026】本発明の装置は好ましくは、各成分に分離された物質混合物のための少なくとも1つの検出器を備えている。これは、例えば、光学検出器または電気化学に基づいて機能する検出器であってよい。その方法において、装置は極めて特定された分析物に適応させ得る。検出器の性質に応じて、例えば極めて特定された成分を検出することが可能である。設計の概念は装置を小型化することを可能にするので、広範囲の用途、例えば工学、理学および医学分野における使用の局面が存在する。

【0027】

【実施例】必須部分を全て有する本発明に係る装置は、模式的な様式で示された変形を参照する実施例により以下により詳しく記載されている。本発明に係る方法の原理もまた、図面を参照して説明されるであろう。図1は本発明に係る分離装置の第1の実施態様であり、そして図2は本発明に係る装置の第2の実施態様である。

【0028】図1に示された実施態様は、流体物質混合物、特に非常に複雑な流体物質混合物の電気泳動による分離のための本発明に係る装置の基礎にある基本的原理を説明している。該装置はキャリアー媒体Cおよび分離すべき物質混合物Sの移送のためのキャピラリー系と、分離すべき物質混合物Sをキャリアー媒体C中に注入するための注入部3と、好ましくはキャピラリー系の一部を形成するキャピラリー形態の分離経路2とからなる。分離経路2を通過する移送の間に、物質混合物は分離経路に沿ってかけられた電場において分離される。明瞭にするために、分離経路2に沿って電場を生成するのに使用される電極は示されていない。図面において、キャリ

アー媒体Cおよび物質混合物Sならびにそれらの流れる方向は適当に表示された矢印SおよびCにより示されている。キャピラリー部21および22の端部はそれぞれ入口および出口23および24で終わっており、それにより、流体の、好ましくは液体のキャリアー媒体Cはキャピラリー系に導入され、そしてまた再び除去され得る。同様に、キャピラリー部1の端部は分離すべき物質混合物Sのための入口11および出口12で終わっている。

【0029】それにより物質混合物Sが移送されるキャピラリー部1と、キャリアー媒体Cが移送されるキャピラリー部21、22との間の交差領域はキャリアー媒体Cの流れの中に物質混合物Sを注入するための注入部3を形成する。交差領域は単純な直線的交差の形態であってよいが、好ましくは、キャリアー媒体C中への分離すべき物質混合物Sの注入のための注入部3が幾何学的に規定された注入容量を有するように構築される。そのために、交差領域は二重(二連)T字型片の形態にあり、該T字型片の横棒部は各々第1の分離経路2またはそれらの直線的伸長部21により形成される。注入容量はそのようにして、分離経路2中への流路部1の入口点と、例えば下流に設置されているその出口開口部との間の距離および分離経路2の断面積により固定される。

【0030】本発明によれば、第1の分離経路に対して角度 α で傾斜し、そして、この実施態様では第1の分離経路2に対してほぼ垂直に伸長する第2の、好ましくはキャピラリー形状の分離経路4が注入部3の下流で、そこからある距離の箇所に設けられている。第2の分離経路4は好ましくはキャピラリー部41内への直線的伸長部において伸長している。第2の分離経路4とキャピラリー部41は同様に装置のキャピラリー系の一部を形成する。キャピラリー部41の端部と第2の分離経路4の端部はそれぞれ入口および出口開口部42および43で終わっており、それにより第2の流体の、好ましくは液体のキャリアー媒体Eがキャピラリー系中に導入され、そしてそれから再び除去され得る。

【0031】第1の分離経路2と第2の分離経路4との交差領域は、それが第2の分離経路4に沿って移送される第2のキャリアー媒体E中に部分的に分離された物質混合物Sを注入するための第2の注入部5を形成するように構築される。その交差領域は単純な直線的交差の形態であってよいが、好ましくは、第2のキャリアー媒体E中への部分的に分離された物質混合物Sの注入のための注入部5が幾何学的に規定された注入容量を有するように構築される。そのために、交差領域は二重T字型片の形態にあり、該T字型片の横棒部は各々第2の分離経路4またはそれらの直線的伸長部、キャピラリー部41により形成される。注入容量はそのようにして、第2の分離経路4中への第1の分離経路2の入口点と、例えば下流に設置されている第1のキャリアー媒体Cのための

出口24中に導くキャピラリー部22の開口部との間の距離および第2の分離経路4の断面積により固定される。

【0032】第1の分離経路2において部分的に分離された物質混合物Sは第2のキャリアー媒体Eの流れの中に第2の注入部5で注入され、そして第2の分離経路4に沿ってかけられた電場において各成分にさらに分離される。明瞭にするために、分離経路4に沿って電場を生成するのに使用される電極は示されていない。第1のキャリアー媒体Cは好ましくは第2のキャリアー媒体Eと異なっている。このようにして第1および第2の分離が異なる基準に従って行われ得る。例えば、まず最初に物質混合物の等電点電気泳動が第1の分離経路2中で行われ得、個々の成分への実際の分離が次の第2の分離経路4において起こる。

【0033】図2に示された本発明に係る装置の実施態様は、原理を示す図1の例のその他の態様である。第1の分離経路2に続いて一連のその他の分離経路4、4A-4Jが下流に配置されている。追加の分離経路4、4A-4Jは全て第1の分離経路2に対してほぼ垂直に、かつ互いにほぼ平行に伸長している。追加の分離経路4、4A-4Jと第1の分離経路2との交差領域は部分的に分離された物質混合物Sのための注入部5、5A-5Jを形成する。原理的な実施態様との関連で説明したように、注入部5、5A-5Jの注入容量は好ましくは幾何学的に規定されている。全ての交差領域はそれ故に二重T字型片の形態にあるのが好ましく、該T字型片の横棒部は各々それぞれの追加の分離経路4、4A-4Jまたはそれらの直線的伸長部、キャピラリー部41、41A-41Jにより形成される。

【0034】追加の分離経路4、4A-4Jの端部およびキャピラリー部41、41A-41Jの端部は第2のキャリアー媒体Eのための共通のリザーバー44および共通の採取容器45で終わっている。特別な場合において、共通のリザーバー44は供給キャピラリーの形態であってよく、共通の採取容器45は除去キャピラリーの形態であってよい。キャピラリー44、45は分離経路2および4、4A-4Jの断面積より大きい断面積である。供給キャピラリー44の2つの端部は、それにより第2のキャリアー媒体が供給キャピラリー44中に導入される開口部46および47に連結されている。除去キャピラリー45の2つの端部は、それによりキャリアー媒体/物質混合物E+Sが除去キャピラリー45の外部に再び移送される出口開口部48および49で終わっている。予め分離された物質混合物Sは、互いに平行に伸長する多数のその他の分離経路4、4A-4J中に注入され、そこで並行してさらに分離が行われる。注入時点の適当な選択により、さらに分離されるその他の分離経路4、4A-4J中に、第1の分離経路2からの物質混合物の極めて特定された「ブレ成分」を注入することが

できる。異なる強度の電場において、個々のその他の分離経路4、4A-4Jでさらに分離することも可能である。

【0035】図2に係る本発明の実施態様はまた、供給および除去キャピラリー44、45中の第2のキャリアー媒体EがpH勾配を有するように変形されてもよい。供給キャピラリーおよび除去キャピラリー中の第2のキャリアー媒体のpH値が同じ勾配曲線を有することに注意すべきである。このようにして、追加の分離経路4、4A-4Jの各々は異なるpH値のキャリアー媒体が供給されてもよい。予め分離された物質混合物の分離は次いで追加の分離経路4、4A-4Jの各々において異なるpH値のキャリアー媒体中、すなわち制御可能な異なる状況下で行われる。

【0036】第2の実施態様の単純化した変形において、物質混合物Sは予備分離が行われず、第1のキャリアー媒体Cの代わりに流入部23を介して直接キャピラリー系中に供給され、そして注入部5、5A-5Jでその他の分離経路4、4A-4J中に注入される。予備分離なしの上記単純化した実施態様において、それにより物質混合物Sが通常第1の分離経路2中に導入されるキャピラリー部1を省略することもできる。

【0037】本発明に係る装置の設計概念はまた、キャピラリー系、注入部3、5、5A-5J、分離経路2、4、4A-4Jおよび供給および除去キャピラリー44、45をガラスまたは半導体材料、好ましくは単結晶シリコンのプレートに製造することを可能とする。分離経路は約1μmないし約500μmの幅で、約0.1μmないし約1000μmの深さの溝の形状にある。プレートは溝を有する側が蓋、好ましくはガラスの蓋で覆われていてもよい。蓋および/またはプレートには、流入および流出開口部23、24;42、43;46-48;11、12が第1および第2のキャリアー媒体、ならびに分離すべき物質混合物Sのために備えられている。それらは好ましくは連結キャピラリーを挿入するための開口部の形態である。

【0038】分離された物質混合物の個々の成分を検出するために、その成分に分離された物質混合物のための検出器(図示せず)が備えられている。該検出器は、例えばそれにより、分離された成分がある時点で2つの空間座標において2次元で検出される光学カメラである。

また、物質混合物Sの分離された成分は空間および時間座標の検出による線型走査光学検出器を用いて検出されてもよい。

【0039】

【発明の効果】本発明に係る装置および本発明に係る方法は、キャピラリー電気泳動システムにおいて非常に複雑な物質混合物の2次元電気泳動を可能にする。高い分離性能は2Dゲル電気泳動の場合に知られている長い分離時間および分析時間を要することなしに得られる。本発明の上記装置および方法は広範囲の用途を有する。キャリアー媒体の選択は分離すべき物質混合物に応じて決定される。pH勾配を用いて、または用いずに適当な電解質溶液またはゲルを使用することが可能である。「ジャーナル・オブ・クロマトグラフィー・ライブラリー」第52巻、キャピラリー電気泳動、1992年、エルゼビア・サイエンス・パブリッシャーズB.V., 173-183頁("Journal of Chromatography Library"-Vol. 52, Capillary Electrophoresis, 1992 Elsevier Science Publishers B.V., pages 173-183)には本発明に係る装置に使用され得るゲルの例が記載されている。小型化された装置は微小機械大量製造法および半導体産業から公知である大量製造法の使用を可能にする。結果として、本発明に係る装置は大量に比較的低コストで製造され得る。「分析チップ」の形態にある小型化された装置はさらに、電子部品、例えば分離経路に電場を生成するための電極のチップ上への集積を可能にする。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る分離装置の第1の実施態様を示す説明図である。

【図2】本発明に係る分離装置の第2の実施態様を示す説明図である。

【符号の説明】

- 2 第1の分離経路
- 3 第1の注入部
- 4 第2の分離経路
- 5 第2の注入部
- C 第1のキャリアー媒体
- S 物質混合物
- E 第2のキャリアー媒体
- α 第1の分離経路と第2の分離経路とのなす角度

【手続補正書】

【提出日】平成6年12月16日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項12

【補正方法】変更

【補正内容】

【請求項12】 分離経路（2，4，4A-4J）が、約0.1 μ mないし約1000 μ mの深さで、約1 μ mないし約500 μ mの幅の溝の形状にあり、狭い溝は深さが常に大きく、そして逆の場合も同様である請求項1記載の装置。